



関西学院大学リポジトリ

Kwansei Gakuin University Repository

細胞外へと提示されたStx4の機能と乳腺の非対称性獲得機構の解明

著者	廣瀬 友衣奈
発行年	2018
URL	http://hdl.handle.net/10236/00028002

細胞外へと提示された Stx4 の機能と 乳腺の非対称性獲得機構の解明

関西学院大学大学院理工学研究科

生命科学専攻 平井研究室 廣瀬 友衣奈

乳腺上皮は、成体期に微小環境に応じてダイナミックな形態変化を繰り返す数少ない組織であり、複雑な上皮構造形成機構を解明する上での優れたモデル組織とされている。組織成熟課程で、単純な構造体が猛スピードで分岐(branching morphogenesis)し、その末端では一層からなる袋状の小葉が構築される(alveolar formation)。局所的な上皮-間葉転換(EMT) は生体内の均一な細胞集団に不均一性を生じさせる際の鍵となり、乳腺の非対称性は局所でこの EMT を起こし、細胞の性質を変化させることで構築されると考えられている。これらは、細胞外の様々な液性因子や細胞外マトリックス、細胞膜に存在する膜タンパク質からのシグナルが複雑に統制し合いながら進行するとされるが、局所的な EMT や組織形成の制御実体には現在も不明な点が多い。最近の研究で、乳腺が非対称性を構築する際に放出されるホルモンの刺激により細胞膜に存在する t-SNARE 分子群の Syntaxin4(Stx4)は一部の上皮細胞において局所的に細胞外に提示されることが報告された。このような非拡散性かつ刺激に応答し機能発現できる因子が局所的な EMT を可能にするのではないかと考え、本研究ではマウス乳腺上皮細胞を用いて、乳腺における非拡散因子 Stx4 の EMT 誘導因子としての機能と乳腺の複雑な組織形成への関与について明らかにすることを目指した。正常性を保持したマウス乳腺上皮モデル細胞株 SCp2 に対して細胞外 Stx4 を発現させた細胞と、親株の SCp2 細胞を混合した細胞凝集塊を三次元培養すると分岐形成を誘導することが明らかになった。続いて、二次元培養下ですべての細胞で細胞外 Stx4 を発現させると、細胞は EMT に似た挙動を示し、それらが Smad を介して引き起こされることを明らかにした。さらに、細胞外 Stx4 は Helix C/SNARE domain を介してアドヘレンスジャンクション構成である E-cadherin と結合することが判明した。また上皮細胞において E-cadherin の機能を阻害することで Smad2 の活性化を誘導できることも明らかになった。よって、細胞外 Stx4 は E-cadherin に直接結合し、その機能を阻害することで Smad2/3 を活性化し EMT を誘導すると考えられる。そして、頂底極性を有し正常機能を保持したマウスの乳腺上皮細胞株 Eph4 を用いて細胞外 Stx4 が乳腺組織の alveolar formation にも深く関わる可能性を見出した。細胞塊中の全ての細胞に細胞外 stx4 を発現させてマトリゲル中で三次元培養すると、内部の細胞が周辺部へと遊走して細胞塊を再編成させ、細胞塊から巨大で滑らかな袋状の球体構造物が形成誘導された。この構造物は組織的に明確な上皮極性を示しており、マトリゲル中で多層の凝集塊から単層で上皮極性を保持した構造物が再編成されたことは in vivo における乳腺小葉の形成に類似する。以上のことから、乳腺において細胞外へと提示された Stx4 は細胞間接着因子・細胞外基質の相互作用により、局所で EMT を制御し上皮細胞の性質変化を誘導することで、乳腺における複雑な組織形成を制御する可能性が示された。